

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕРОГО ТЮЛЕНЯ *HALICHOERUS GRYPUS* (PHOCIDAE) КАНДАЛАКШСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ПРИРОДНОГО ЗАПОВЕДНИКА (РОССИЯ)

И. А. Ерохина*, Н. Н. Кавцевич, Т. В. Минзюк

Мурманский морской биологический институт Кольского научного центра РАН, Россия

*e-mail: irina.erohina58@mail.ru

Поступила: 27.09.2019. Исправлена: 22.11.2019. Принята к опубликованию: 24.11.2019.

Представлены результаты прижизненного исследования клеточного состава и биохимических параметров крови серого тюленя (*Halichoerus grypus grypus*), обитающего на территории Кандалакшского государственного природного заповедника (о. Большой Айнов, Баренцево море). В 2006 и 2013 гг. обследовали животных в раннем постнатальном периоде развития – от рождения до завершения молочного вскармливания. В характеристике клеточного состава крови особое внимание уделялось лейкоцитарной формуле крови и показателям функциональной активности клеток, характеризующим уровень неспецифической бактерицидной активности, – содержанию в гранулоцитах миелопероксидазы и катионного белка. Набор определяемых биохимических параметров крови включал основные показатели обмена белков, углеводов, липидов и минеральных веществ: содержание общего белка и его фракций, мочевины, креатинина, мочевого кислоты, глюкозы, молочной кислоты, общих липидов, триглицеридов, холестерина, кальция, фосфора, натрия, калия, магния, железа, активность ферментов (аминотрансферазы, лактатдегидрогеназа, щелочная фосфатаза, α -амилаза, γ -глутамилтрансфераза, креатинкиназа). Значения изученных показателей крови находились в пределах нормы, описанной в литературе для *H. grypus* того же возраста, что позволило оценить состояние рожденных в 2006 и 2013 гг. щенков как нормальное. Установлено, что в первый месяц жизни *H. grypus* бактерицидная функция лейкоцитов осуществляется, главным образом, при участии миелопероксидазы, а катионные белки служат лишь дополнением бактерицидной системы. Динамика метаболических характеристик *H. grypus* в раннем постнатальном периоде жизни сходна с таковой у наземных млекопитающих, при этом уровень ряда показателей следует отнести к особенностям метаболизма ластоногих. Так, активность гамма-глутамилтрансферазы, являющейся маркером пассивного переноса иммуноглобулинов у новорожденных морских млекопитающих, почти в 10 раз ниже, чем у наземных. Активность щелочной фосфатазы, используемой в качестве показателя упитанности животных и для дифференциации катаболических и анаболических состояний, у изученных щенков *H. grypus* превышает таковую у одновозрастных наземных млекопитающих. Новорожденные особи *H. grypus* обладают высокой кислородной емкостью крови, сравнимой с показателями взрослых животных. Особи *H. grypus*, обследованные в 2006 и 2013 гг., характеризуются сходством гематологических и биохимических параметров крови. Не отмечено существенных изменений в уровне неспецифической резистентности и метаболическом статусе животных к 2013 г., спустя семь лет после первого обследования. Полученные физиолого-биохимические параметры крови могут быть приняты в качестве референтных и в дальнейшем использоваться в системе оценки состояния животных и уровня нагрузки на них различных природных и антропогенных факторов.

Ключевые слова: биохимия, гематология, Красная книга, оценка физиологического состояния, периферическая кровь, редкие виды

Введение

В настоящее время климатические изменения в Арктике, а также социально-экономическая и геополитическая обстановка, вызывают усиление внимания к состоянию морских экосистем, их реакциям на меняющуюся нагрузку природных и антропогенных факторов. Морские млекопитающие, в силу особенностей их биологии, рассматриваются в качестве наиболее уязвимых объектов. Не случайно появление многочисленных публикаций, посвященных ответным реакциям этих животных на различные внешние воздействия, возможности использования их в качестве видов-индикаторов состояния морских экосистем (Fair & Becker, 2000; Johannessen & Miles, 2011; Рожнов, 2015). Одним из центральных вопросов

в мониторинге природных популяций животных является поиск чувствительных индикаторов экологического неблагополучия. Диагностические возможности раннего обнаружения первых признаков неблагоприятных воздействий наиболее полно реализуются на молекулярном и клеточном уровнях. В качестве материала для прижизненных исследований часто используется кровь, несущая, в силу своих структурно-функциональных свойств, информацию о тканях и органах всего организма. Идея эта не нова, известны подобные исследования рыб (Martinez-Porchas et al., 2011; Kovyrshina & Rudneva, 2018), рептилий (Романова и др., 2018), птиц (Кочерга, 2012), наземных (Узенбаева и др., 2010) и морских (Русскова и др., 2010; Goertz et al., 2019) млекопитающих.

Halichoerus grypus (Fabricius, 1791) – монотипический вид, включает два подвида, обитающих в водах России: атлантический (*Halichoerus grypus grypus* Fabricius, 1791) и балтийский (*Halichoerus grypus macrorhynchus* Hornschuch and Schilling, 1851). В водах Арктики обитает только атлантический подвид *H. grypus* (Морские млекопитающие..., 2017). В прибрежье Мурмана отмечаются две крупные размножающиеся колонии: западная – на Айновых островах и восточная – на архипелаге Семь Островов. Международный охранный статус *H. grypus* характеризуется низкой степенью угрозы исчезновения. Однако в России и в нескольких штатах США является охраняемым видом, а в Мурманской области России подлежит полной охране (Кавцевич, Ерохина, 2014). Научное сотрудничество Мурманского морского биологического института и Кандалакшского государственного природного заповедника, направленное на изучение размножающихся колоний *H. grypus* в Баренцевом море, началось в 1987 г. В 1990-е гг. исследования проводились преимущественно на Восточном Мурмане. Начиная с 2005 г. внимание уделяется *H. grypus*, размножающимся в районе Айновых островов (Варангер-фьорд, Западный Мурман). Численность животных здесь составляет не менее 3800 особей (Кондаков и др., 2015). Первые исследования метаболического статуса *H. grypus* мурманских колоний проведены в 1991 г. и впоследствии были нерегулярными. В то же время, трудно переоценить значение подобных исследований в раскрытии общих и частных механизмов адаптации морских животных, определяющих распространение и возможности их обитания в экологически разных средах и прогнозирование судьбы конкретной популяции при изменении условий обитания. Особого внимания при этом заслуживают ранние этапы развития животных, поскольку в это время осуществляется наиболее интенсивное формообразование структурно-функциональных систем организма.

В связи с вышеизложенным, целью данной работы была оценка по параметрам крови физиологического состояния щенков *Halichoerus grypus*, родившихся в 2006 и 2013 гг. на территории Кандалакшского заповедника.

Материал и методы

Материал для исследования собран во время экспедиций 2006 и 2013 гг. на о. Большой Айнов в Баренцевом море (Кандалакшский государственный природный заповедник, рис. 1) в период размножения *Halichoerus grypus* (ноябрь – декабрь).

Изученные животные были разделены на три группы в зависимости от фенотипически легко определяемой стадии развития, которая в раннем постнатальном периоде жизни определяется характером питания: I – новорожденные (0–1 неделя, n = 12), II – питающиеся молоком матери (2–3 недели, n = 22), III – закончившие молочное питание (4–6 недель, n = 14) (рис. 2).

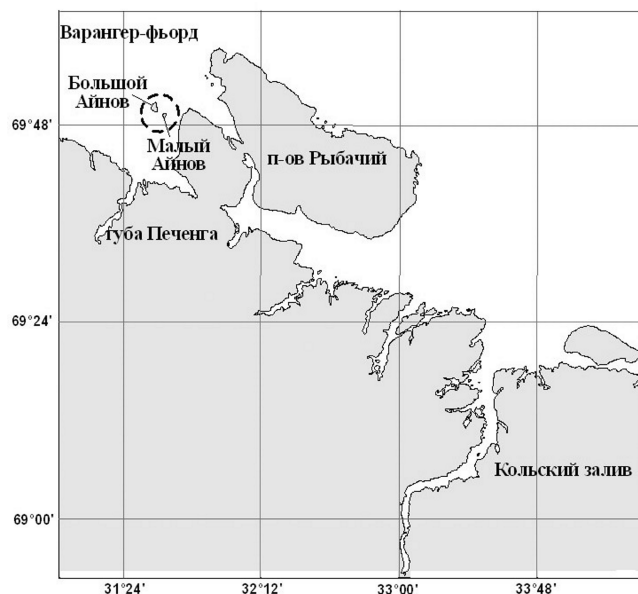


Рис. 1. Карта-схема района работ.

Fig. 1. Map of the study area.



Рис. 2. Объекты исследования. Обозначения: I – новорожденные (0–1 неделя, n = 12), II – питающиеся молоком матери (2–3 недели, n = 22), III – закончившие молочное питание (4–6 недель, n = 14).

Fig. 2. Objects of the study. Designations: I – newborn (0–1 weeks, n = 12), II – actively nursing (2–3 weeks, n = 22), III – completed nursing (4–6 weeks, n = 14).

Кровь у особей *Halichoerus grypus* брали из экстрадуральной вены, как описано в работе Geraci & Smith (1975), в качестве антикоагулянта использовали гепарин. Изготовление мазков крови, общий анализ и определение лейкоцитарной формулы проводили общепринятым способом (Смирнова, Кост, 1960). Мазки крови окрашивали смесью Романовского-Гимза. Фиксированные мазки окрашивали на катионный белок зеленым прочным по методу Олферта и Гешвинда (Бутенко и др., 1974). Миелопероксидазу в лейкоцитах выявляли в реакции с бензидином по методу Кваглино (Лецкий, 1973). При определении содержания катионного белка и миелопероксидазы в гранулоцитах крови вычисляли средний цитохимический коэффициент (Лецкий, 1973), характеризующий наличие и степень интенсивности реакции. Для исследования клеточного состава крови использовали микроскоп Axio Imager M1, оснащенный цифровой видеокамерой AxioCam и программным обеспечением AxioVision (фирмы Zeiss). Все окрашенные препараты изучали, используя масляную иммерсию (объектив $\times 100$, окуляр $\times 10$). Концентрацию гемоглобина в цельной крови определяли гемиглобинцианидным методом (Данилова, 2003). Для биохимических исследований плазму крови отделяли центрифугированием в течение 10 мин. при скорости 1500 об./мин. Биохимические показатели и минеральный состав плазмы крови определяли на анализаторе РОКИ (Беларусь), используя наборы реагентов для биохимических исследований производства НПФ «Абрис+» (Россия). Содержание общего белка определяли биуретовым методом (Данилова, 2003), белковые фракции – нефелометрическим методом (Смиян, 1987). Для определения концентрации мочевины применяли унифицированный метод по цветной реакции с диацетилмонооксимом, креатинина – метод на основе реакции Яффе, мочевой кислоты – метод по реакции с фосфорно-вольфрамовым реактивом (Данилова, 2003). Содержание глюкозы и молочной кислоты определяли энзиматическими колориметрическими методами (Тиц, 1997). Для определения общих липидов применяли метод по цветной реакции с сульфованилиновым реактивом (Камышников, 2000), триглицеридов и холестерина – энзиматические колориметрические методы (Тиц, 1997). Минеральные вещества определяли следующими методами: кальций – по реакции с хромогеном Арсеназо III, фосфор – реакцией с молибдатом аммония, магний – реакцией с ксилитидиловым синим, же-

лезо – реакцией с Nitro-PAPS, натрий – реакцией с уриилацетатом, калий – турбидиметрическим методом реакцией с тетрафенилборатом (Тиц, 1997). Активность ферментов (лактатдегидрогеназа, аспаргатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, γ -глутамилтрансфераза, α -амилаза, креатинкиназа, щелочная фосфатаза) определяли кинетическими методами (Тиц, 1997). Статистическую обработку цифрового материала проводили методами вариационной статистики с использованием программ Microsoft Excel Windows XP и Statistica 6.0. Рассчитывали среднюю и ошибку средней ($M \pm m$), коэффициент вариации (CV), показатели асимметрии (As) и эксцесса (Ex). Для оценки достоверности различий между средними величинами использовали χ^2 , t -критерий Стьюдента, различия при $p < 0.05$ рассматривались как статистически значимые (Урбах, 1963).

Результаты и обсуждение

Все обследованные в 2006 и 2013 гг. животные были без явных признаков патологии. В характеристике клеточного состава крови особое внимание уделялось лейкоцитарной формуле крови и показателям функциональной активности клеток, характеризующим уровень неспецифической бактерицидной активности, – содержание в гранулоцитах миелопероксидазы и катионного белка. Определение лейкоцитарной формулы является необходимой составной частью общего анализа крови. Принадлежность лейкоцитов *Halichoerus grypus* к одному из известных их типов, как правило, не вызывает сомнений. Исключение составляют клетки с сегментированным ядром и розовыми цитоплазматическими гранулами неправильной формы с размытыми границами (рис. 3а,б).

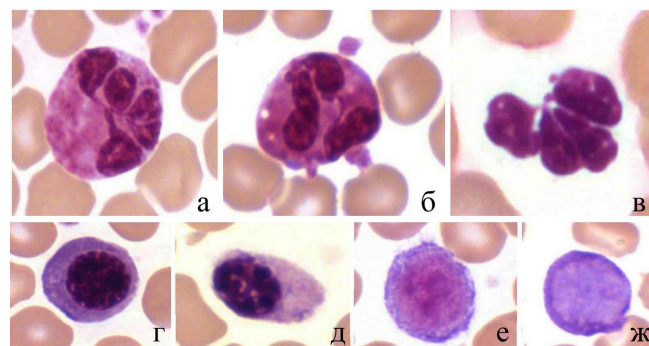


Рис. 3. Клетки крови щенков *Halichoerus grypus*. Обозначения: а и б – «гетерофилы»; в – нейтрофил с ядром необычной формы; г и д – базофильный и полихроматофильный нормоциты; е, ж – пронормоциты.

Fig. 3. *Halichoerus grypus* pups' blood cells. Designations: а and б – «heterophiles»; в – neutrophil with an unusual nucleus shape; г, д – basophilic and polychromatophilic normocytes; е, ж – pronormocytes.

Подобные лейкоциты выявлены и у наземных млекопитающих (собак) (Риган и др., 2000). Их число у обследованных особей *Halichoerus grypus* составляет 0–2.5% от всех гранулоцитов. У *H. grypus* встречаются также нейтрофилы и эозинофилы с ядрами необычной формы (рис. 3в): отдельные сегменты соединены друг с другом нитями хроматина, сходящимися в одной точке, а не последовательно, как у большинства изученных млекопитающих. Такие же лейкоциты мы обнаружили у *Pagophilus groenlandicus* (Erxleben, 1777) (Кавцевич, 2003) и *Erignathus barbatus* (Erxleben, 1777) (Minzyuk et al., 2015). По-видимому, это является одной из особенностей дифференцировки клеток миелоидного ростка кроветворения у тюленей.

Определение лейкоцитарной формулы крови щенков *Halichoerus grypus* различных возрастных групп позволило выявить ряд различий между ними (рис. 4) – по мере взросления животных происходит снижение количества сегментоядерных нейтрофилов с параллельным увеличением лимфоцитов. При этом не отмечено существенной разницы между показателями, полученными в 2006 и 2013 гг.

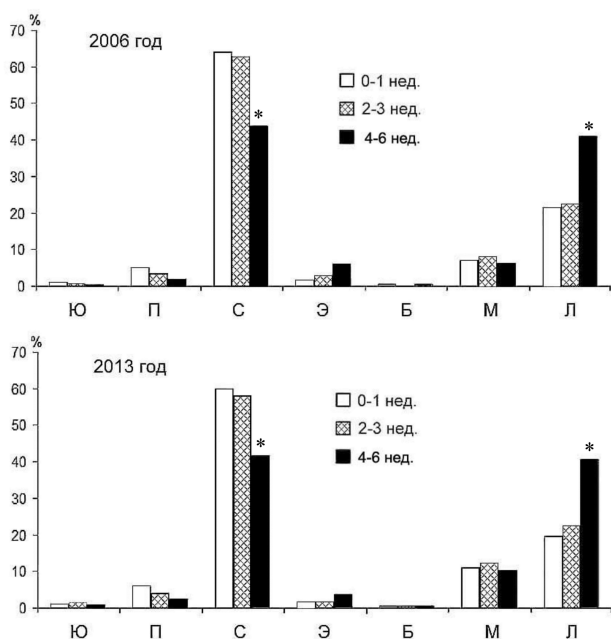


Рис. 4. Лейкоцитарная формула крови *Halichoerus grypus*. Обозначения: Ю, П, С – юные, палочкоядерные, сегментоядерные нейтрофилы, соответственно; Э – эозинофилы; Б – базофилы; М – моноциты; Л – лимфоциты. * – статистически значимые ($p < 0.05$) различия по сравнению с показателями животных более ранних возрастных групп.

Fig. 4. Leukocyte blood differential count of *Halichoerus grypus*. Designations: Ю, П, С – young, band, segmented neutrophils, respectively; Э – eosinophils; Б – basophils; М – monocytes; Л – lymphocytes. * – statistically significant ($p < 0.05$) differences compared with the indicators of animals of earlier age groups.

Кровь новорожденных *Halichoerus grypus* содержит «юные» нейтрофилы, метамиелоциты. У питающихся молоком и завершивших молочное вскармливание щенков эти клетки более редкие. Базофильные лейкоциты – наименее постоянная часть лейкоцитарной формулы крови *H. grypus*. Их число колеблется от 0% до 1.5%, что согласуется с результатами, ранее полученными для тюленей других видов (Engelhardt, 1979; Bossart et al., 2001). Кровь закончивших молочное питание щенков характеризуется более высоким, чем у остальных тюленей, содержанием эозинофилов, что, вероятно, является следствием алергизации веществами, поступившими из воздуха и/или пищи.

Большинство лимфоидных клеток крови *Halichoerus grypus* – малые лимфоциты, но у всех щенков в значительном количестве (5–10% от числа лимфоцитов) встречаются и большие лимфоциты с признаками активированных клеток. Выявлены лимфоциты, содержащие в цитоплазме азурофильные гранулы, «большие гранулярные лимфоциты» (БГЛ). БГЛ рассматривают как «первую линию обороны» системы иммунитета, менее специфичную, чем индуцированный иммунитет, но быстрее реагирующую на различные патогены (Зак, Бутенко, 1985). Доля этих клеток от числа лимфоцитов составила $1.19 \pm 0.42\%$ у новорожденных, $1.56 \pm 0.45\%$ – у питающихся молоком щенков, $2.43 \pm 0.85\%$ – у животных, завершивших молочное питание. Различия между группами по этому показателю не являются статистически значимыми ($p > 0.05$) из-за высокого уровня его вариабельности. Последнее можно рассматривать как дополнительное свидетельство нестабильного состояния развивающейся лимфоидной системы щенков *H. grypus*. Исследование БГЛ у морских млекопитающих заслуживает особого внимания, поскольку они, вероятно, являются предшественниками Т-лимфоцитов в эволюции системы иммунитета позвоночных (James, 1988). У новорожденных *H. grypus*, кормящихся молоком и завершивших молочное вскармливание, встречаются также предшественники эритроцитов, содержащие ядро, – нормоциты и даже проноормоциты (рис. 3е,ж).

Заслуживает внимания величина соотношения числа сегментоядерных нейтрофилов (С) и лимфоцитов (Л) в третьей группе животных (рис. 4). К возрастным особенностям состава крови относится уравнивание в определенные периоды количества лимфоцитов и нейтрофилов, «физиологический перекрест» лейкоци-

тарной формулы крови. У человека это явление отмечается на четвертые сутки после рождения и в четыре года (Бобова и др., 2003). Позднее окончательно устанавливается нейтрофильный профиль крови. Сроки наступления физиологического перекреста у других видов млекопитающих с разной продолжительностью жизни и особенностями онтогенеза могут различаться. Так, в картине крови крупного рогатого скота, а также у свиней и кроликов, второй «перекрест» не выявлен, хотя у старых животных количество нейтрофилов становится близким к количеству лимфоцитов (Любин, Конова, 2005). У *Halichoerus grypus* после рождения и начиная с возраста 3–4 месяцев преобладающим типом клеток в лейкоцитарной формуле крови являются сегментоядерные нейтрофилы (Кавцевич, Минзюк, 2011). Высокий уровень зрелых сегментоядерных нейтрофилов в первые дни жизни обусловлен поступлением с молоком матери гормонов и рассматривается как приспособление, обеспечивающее неспецифическую защиту организма от инфекций в раннем постнатальном периоде развития (Алексеев, 1998). Повышение же относительного числа лимфоцитов связывают с интенсивной пролиферацией лимфоидных клеток развивающейся системы специфического иммунитета. Установлено (Кавцевич, 2003), что у щенков *Pagophilus groenlandicus* «физиологический перекрест» происходит в более ранний период онтогенеза, чем у *H. grypus*.

Уровень естественной резистентности организма имеет большое значение в процессах адаптации морских млекопитающих к условиям окружающей среды. Центральным звеном врожденного клеточного иммунитета являются фагоцитирующие лейкоциты (нейтрофильные, эозинофильные и базофильные гранулоциты), осуществляющие антимикробную защиту. Кроме этого, они играют роль медиаторов воспаления, обладают цитотоксическим, противовоспалительным действием (Пигаревский, 1978; Зайчик, Чурилов, 2002). Бактерицидная активность лейкоцитов обеспечивается кислородзависимой ферментной системой (миелопероксидаза, синглетный кислород, супероксидный анион, гидроксильный радикал, пероксид водорода, галогены) и кислороднезависимой неферментной системой (катионные белки, лизоцим, трансферрин, лактоферрин, молочная кислота). Недостаточность миелопероксидазы (МПО) и катионных белков (КБ) в гранулоцитах приводит к резкому снижению неспецифической ре-

зистентности организма (Пигаревский, 1978). В основе механизма бактерицидного действия МПО лежит процесс галогенизации белков бактерий, который осуществляется только в присутствии пероксида водорода и галогенов (Роговин и др., 1983; Зайчик, Чурилов, 2002). Кроме того, МПО как фермент антиоксидантной системы (АОС) принимает участие в регуляции уровня свободнорадикального окисления, обеспечивая защиту организма от окислительного стресса. У ныряющих млекопитающих (*Mustela vison* (Schreber, 1777), *Ondatra zibethicus* (Linnaeus, 1766), Delphinidae) при нормальном дыхании активность ферментов АОС выше, чем у наземных животных. Наряду с каталазой, пероксидазой и другими ферментами АОС МПО участвует в поддержании аэробных процессов метаболизма при гипоксии (Руднева-Титова, 1997). Неферментные КБ проявляют бактерицидную активность в анаэробных условиях.

Количество лейкоцитов, дающих положительную реакцию на МПО, у *Halichoerus grypus* всех изученных возрастных групп высокое – 95–100% у животных 2006 г. рождения и 85–95% у зверей 2013 г. (рис. 5). Однако средний цитохимический коэффициент (СЦК), характеризующий степень интенсивности реакции, достоверно снижается в клетках *H. grypus* с возрастом.

Число лейкоцитов, в которых выявляются КБ, у изученных нами особей *Halichoerus grypus* до завершения молочного питания очень низкое – 2.0–4.5% (рис. 6). При этом наименьшее содержание КБ отмечается у новорожденных животных, но статистически значимо ($p < 0.05$) увеличивается в период завершения молочного вскармливания и ювенильной линьки.

Вероятно, в первый месяц жизни *Halichoerus grypus* бактерицидная функция лейкоцитов осуществляется, главным образом, при участии МПО, а КБ служат лишь дополнением бактерицидной системы.

Наряду с изучением клеточного состава крови *Halichoerus grypus* исследовали биохимические параметры плазмы: содержание общего белка и его фракций, мочевины, креатинина, мочевой кислоты, глюкозы, молочной кислоты, общих липидов, триглицеридов, холестерина, кальция, фосфора, натрия, калия, магния, железа, активности ферментов (амино-трансферазы, лактатдегидрогеназа, щелочная фосфатаза, α -амилаза, γ -глутамилтрансфераза, креатинкиназа). Полученные результаты представлены в табл. 1 и табл. 2.

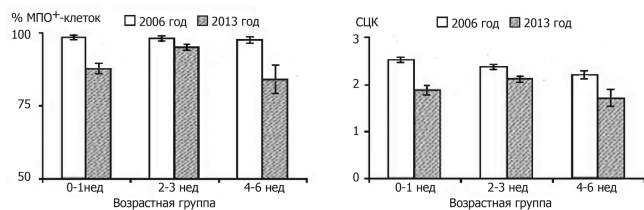


Рис. 5. Содержание миелопероксидазы в гранулоцитах *Halichoerus grypus*.
Fig. 5. Myeloperoxidase content in granulocytes of *Halichoerus grypus*.

В целом, значения изученных показателей крови соответствовали описанным в литературе уровням для *Halichoerus grypus* в период от рождения до завершения молочного питания (Bossart et al., 2001; Кавцевич и др., 2015; Goertz et al., 2019) и существенно отличались от данных о составе крови у щенков *H. grypus* с различными патологиями (Barnett et al., 2007), что позволило оценить состояние рожденных в 2006 и 2013 гг. щенков как нормальное.

Результаты исследований, представленные в табл. 1 и табл. 2, свидетельствуют о том, что в раннем периоде постнатального развития *Halichoerus grypus* происходят метаболические перестройки, присущие млекопитающим в целом, однако степень выраженности отдельных реакций может рассматриваться как особенность ластоногих.

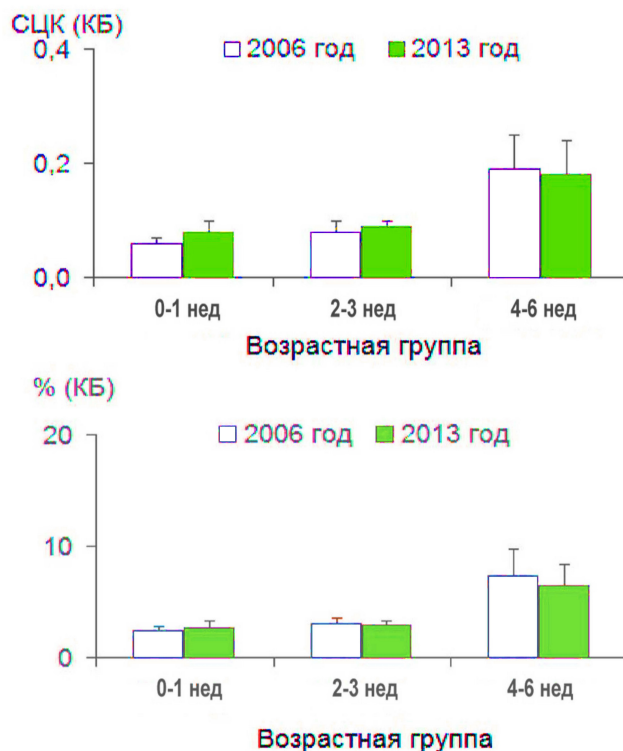


Рис. 6. Содержание катионного белка в гранулоцитах *Halichoerus grypus*.

Fig. 6. The content of cationic protein in granulocytes of *Halichoerus grypus*.

Таблица 1. Биохимические показатели плазмы крови у *Halichoerus grypus* в 2006 г.

Table 1. Biochemical parameters of blood plasma in *Halichoerus grypus* in 2006

Показатель	Единицы измерения	Группы животных		
		I	II	III
Общий белок	г/л	64.69 ± 0.34	68.13 ± 1.10*	64.75 ± 0.80 (< 0.01)
Альбумин	г/л	41.63 ± 2.19	41.22 ± 1.32	43.32 ± 0.52 (< 0.01)
α-Глобулины	г/л	8.13 ± 1.67	9.31 ± 0.67	9.45 ± 0.31
β-Глобулины	г/л	8.49 ± 1.43	7.88 ± 0.92	5.76 ± 0.31 (< 0.05)
γ-Глобулины	г/л	6.51 ± 0.48	9.73 ± 0.63*	5.11 ± 0.27* (< 0.001)
Мочевина	ммоль/л	3.55 ± 0.94	4.01 ± 0.52	5.48 ± 0.17 (< 0.01)
Креатинин	мкмоль/л	73.75 ± 9.04	79.04 ± 4.37	93.85 ± 6.76
Мочевая кислота	мкмоль/л	503.32 ± 47.13	468.33 ± 27.43	504.35 ± 21.60
Глюкоза	ммоль/л	2.32 ± 0.48	1.09 ± 0.13*	0.70 ± 0.07* (< 0.01)
Молочная кислота	ммоль/л	8.31 ± 2.43	7.66 ± 1.40	13.72 ± 2.24 (< 0.02)
Общие липиды	г/л	11.19 ± 1.28	9.49 ± 0.75	8.33 ± 0.42
Триглицериды	ммоль/л	3.00 ± 0.16	1.96 ± 0.52	1.31 ± 0.11*
Холестерин общий	ммоль/л	10.07 ± 0.76	9.65 ± 0.35	12.41 ± 0.47* (< 0.001)
Кальций	ммоль/л	3.13 ± 0.18	2.60 ± 0.12*	2.29 ± 0.14*
Фосфор неорганический	ммоль/л	2.10 ± 0.17	2.05 ± 0.12	2.02 ± 0.13
Магний	ммоль/л	1.41 ± 0.15	1.09 ± 0.08	0.95 ± 0.02*
Железо	мкмоль/л	64.45 ± 5.07	66.00 ± 4.64	38.17 ± 1.69* (< 0.001)
Натрий	ммоль/л	133.13 ± 8.17	141.25 ± 7.10	143.91 ± 9.42
Калий	ммоль/л	7.28 ± 0.82	6.39 ± 0.64	7.38 ± 0.43
Лактатдегидрогеназа	МЕ/л	1275.99 ± 226.84	1601.66 ± 166.08	1362.55 ± 120.47
Аспаргатаминотрансфераза	МЕ/л	44.99 ± 9.56	29.63 ± 2.62	39.87 ± 2.31 (< 0.01)
Аланинаминотрансфераза	МЕ/л	28.33 ± 5.48	26.34 ± 2.86	21.05 ± 1.23
γ-Глутамилтрансфераза	МЕ/л	13.33 ± 2.10	7.36 ± 1.20*	5.63 ± 1.44*
α-Амилаза	МЕ/л	316.17 ± 19.01	370.22 ± 28.04	350.92 ± 31.33
Креатинкиназа	МЕ/л	7.20 ± 0.64	18.25 ± 1.20*	17.90 ± 0.90*
Щелочная фосфатаза	МЕ/л	57.90 ± 13.60	84.85 ± 17.90	104.64 ± 10.85*

Примечание: Здесь и далее знаком «*» обозначены статистически значимые различия по сравнению с показателями новорожденных животных. В скобках указан уровень значимости различий по сравнению с предыдущим периодом развития.

Таблица 2. Биохимические показатели плазмы крови у *Halichoerus grypus* в 2013 г.
Table 2. Biochemical parameters of blood plasma in *Halichoerus grypus* in 2013

Показатель	Единицы измерения	Группы животных		
		I	II	III
Общий белок	г/л	69.84 ± 2.10	72.06 ± 1.76	72.40 ± 1.24
Альбумин	г/л	43.85 ± 1.26	43.62 ± 1.80	48.39 ± 2.10
α-Глобулины	г/л	9.12 ± 0.65	8.63 ± 0.55	9.64 ± 1.32
β-Глобулины	г/л	9.04 ± 0.81	9.26 ± 0.48	7.25 ± 0.91
γ-Глобулины	г/л	7.84 ± 1.10	10.55 ± 1.12	7.12 ± 0.85 (< 0.05)
Мочевина	ммоль/л	14.09 ± 2.02	14.96 ± 2.52	19.84 ± 3.00
Креатинин	мкмоль/л	58.22 ± 9.17	59.20 ± 4.85	72.20 ± 5.10
Мочевая кислота	мкмоль/л	496.24 ± 32.15	502.68 ± 25.65	506.27 ± 23.45
Глюкоза	ммоль/л	1.86 ± 0.24	1.28 ± 0.10*	0.85 ± 0.12* (< 0.05)
Молочная кислота	ммоль/л	7.52 ± 0.68	7.10 ± 0.84	12.25 ± 1.06* (< 0.05)
Общие липиды	г/л	12.46 ± 0.84	10.92 ± 0.56	10.35 ± 0.48*
Триглицериды	ммоль/л	2.32 ± 0.33	2.95 ± 0.89	2.92 ± 0.36
Холестерин общий	ммоль/л	8.63 ± 1.30	9.20 ± 1.82	11.92 ± 1.47
Кальций	ммоль/л	2.42 ± 0.24	2.71 ± 0.35	2.32 ± 0.33
Фосфор неорганический	ммоль/л	4.44 ± 0.57	4.16 ± 0.70	3.18 ± 0.89
Магний	ммоль/л	1.29 ± 0.11	1.05 ± 0.10	1.15 ± 0.14
Железо	мкмоль/л	59.65 ± 2.23	62.21 ± 3.10	41.26 ± 2.14* (< 0.05)
Натрий	ммоль/л	169.40 ± 2.25	155.00 ± 2.90*	151.95 ± 1.25*
Калий	ммоль/л	5.44 ± 0.42	5.46 ± 0.83	7.03 ± 1.10
Лактатдегидрогеназа	МЕ/л	1174.50 ± 210.25	1284.23 ± 110.46	1120.74 ± 135.60
Аспаргатаминотрансфераза	МЕ/л	45.20 ± 3.26	31.72 ± 2.15*	26.19 ± 2.10*
Аланинаминотрансфераза	МЕ/л	25.75 ± 1.30	24.12 ± 1.44	20.5 ± 1.12
γ-Глутамилтрансфераза	МЕ/л	14.59 ± 2.38	9.10 ± 2.08	5.21 ± 0.58*
α-Амилаза	МЕ/л	306.28 ± 16.22	356.14 ± 20.42	322.45 ± 15.26
Креатинкиназа	МЕ/л	6.88 ± 1.40	16.51 ± 2.75*	16.58 ± 3.37*
Щелочная фосфатаза	МЕ/л	60.15 ± 12.80	89.24 ± 10.45	112.10 ± 11.23*

Примечание: Жирным текстом выделены статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) между данными 2006 и 2013 гг.

Плазма крови новорожденных *Halichoerus grypus* характеризуется низкой концентрацией глюкозы, поскольку прекращается приток этого основного энергетического субстрата от организма матери. В дальнейшем уровень глюкозы продолжает снижаться и к концу периода молочного вскармливания составляет всего 0.85 ± 0.12 ммоль/л. Начало повышения уровня глюкозы в крови *H. grypus* выявлено в возрасте 1.5–2.0 месяцев (Erokhina, 2009). Значительный прирост (более чем в восемь раз) отмечается только с началом самостоятельного питания, очевидно, в результате становления механизмов глюконеогенеза. К особенностям состава плазмы крови новорожденных *H. grypus* относятся высокая активность γ-глутамилтрансферазы (ГГТФ) и низкая – щелочной фосфатазы (ЩФ). ГГТФ является ферментом, ассоциированным с клеточными мембранами многих органов (печень, сердце, мышцы, почки, поджелудочная железа). При этом есть сведения о том, что ГГТФ может использоваться в качестве маркера пассивного переноса иммуноглобулинов у новорожденных морских млекопитающих, поскольку молозиво и молоко лактирующих самок характеризуются высокой активностью

ГГТФ (Bossart et al., 2001). Аналогичные данные были получены и для наземных домашних млекопитающих (Boyd, 1984). Однако, значения активности ГГТФ для этих животных более, чем в 10 раз превышают таковые для новорожденных *H. grypus* в нашем исследовании, а также показатели, полученные при изучении щенков *Pagophilus groenlandicus* и *Cystophora cristata* (Erleben, 1777) (Boily et al., 2006). Отсюда следует, что формирование пассивного иммунитета за счет иммуноглобулинов матери у лаастоногих происходит с меньшей интенсивностью по сравнению с наземными млекопитающими. Активность ЩФ у морских млекопитающих по сравнению с наземными выше во все возрастные периоды (Bossart et al., 2001; Boily et al., 2006). Есть данные о том, что уровень ЩФ в плазме крови морских млекопитающих положительно коррелирует с интенсивностью анаболических процессов в организме, на основании чего концентрация фермента может использоваться в качестве показателя упитанности животных, а также дифференциации катаболических и анаболических состояний (Dover et al., 1993). У новорожденных *H. grypus* обнаруживается низкая активность ЩФ, которая

статистически значимо увеличивается только к концу периода молочного вскармливания. Такая же картина наблюдается и для креатинкиназы (КК). Следует отметить, что активность КК у ластоногих варьирует в широких пределах – 21–4572 МЕ/л (Bossart et al., 2001), зависит от возраста (у взрослых в несколько раз превышает показатели молодых особей) и объясняется этот факт различиями в физической активности животных, если только не вызван патологическими состояниями.

В период активного питания молоком, по нашим данным, состав плазмы крови *Hali-choerus grypus* не претерпевает значительных изменений. Отметим лишь активность трансаминаз – аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ). Эти ферменты являются связующим звеном между белковым и углеводным обменом, осуществляют биохимическую регуляцию пула свободных аминокислот. При этом АлАТ в большей мере отображает уровень анаболизма, АсАТ, наоборот, интенсивность катаболизма, а совокупность сопряженных активностей АлАТ↔АсАТ представляет собой в упрощенном виде общий маркер всего обмена веществ (Рослый, Водолажская, 2010). Общей чертой состояния трансаминаз у всех изученных групп *H. grypus* является преобладание активности АсАТ над АлАТ (табл. 1, табл. 2), что свидетельствует о преобладании процессов катаболизма над анаболизмом. При этом активность АсАТ снижается, а активность АлАТ практически не изменяется с рождения до завершения молочного питания. О соотношении катаболизма и анаболизма судят по коэффициенту де Ритиса – АсАТ/АлАТ. У новорожденных *H. grypus* величина этого коэффициента составляет 1.59 в 2006 г. и 1.76 в 2013 г., снижаясь в период активного питания до 1.12 и 1.32, соответственно. В период завершения молочного вскармливания у *H. grypus* 2006 г. рождения коэффициент де Ритиса составляет 1.89, тогда как у животных 2013 г. рождения – 1.28.

Заметные изменения в составе плазмы крови наблюдаются к концу периода молочного вскармливания. Продолжает снижаться активность ГГТФ. В противоположность этому, активность ЩФ увеличивается, что подтверждает приведенную выше точку зрения (Dover et al., 1993) о значении фермента в оценке упитанности животных. Трансаминазы (АсАТ и АлАТ) и креатинкиназа характеризуются тем

же состоянием, что у новорожденных *Hali-choerus grypus* или в период их активного питания. Отметим уменьшение концентрации общих липидов в плазме крови к концу молочного вскармливания, что вполне закономерно, поскольку далее щенки *H. grypus* вступают в присущий всем ластоногим период естественного голодания продолжительностью 4–5 недель перед началом самостоятельного питания. В это время для поддержания жизнедеятельности используются накопленные в период молочного вскармливания жировые запасы, которые служат источником энергетических субстратов, а также являются важным звеном в механизме терморегуляции. Концентрация общих липидов в плазме крови *H. grypus*, как и других ластоногих, увеличивается лишь с началом самостоятельного питания (Ерохина, 2009). В период завершения молочного питания в плазме крови *H. grypus* отмечено повышение содержания молочной кислоты более чем в полтора раза по сравнению с предыдущими периодами развития, что может быть признаком кислородного голодания тканей. Однако существенного влияния на кислотно-основное состояние крови это явление не оказывает. Наши исследования показали, что в первые полтора месяца жизни после рождения статистически значимых изменений рН крови *H. grypus* не происходит и значение этого показателя находится в пределах 7.09–7.16. Заслуживает внимания снижение концентрации железа в плазме крови завершивших молочное питание особей *H. grypus* в среднем в полтора раза по сравнению с новорожденными и животными в период активного питания молоком (рис. 7). У практически здоровых животных снижение количества железа в крови может быть вызвано его усиленной утилизацией органами и тканями, например, при быстром росте или повышенной физической активности. Не исключая эту причину, мы полагаем, что железо расходуется, главным образом, на синтез гемоглобина. На это указывают наши данные о содержании гемоглобина в крови изученных групп *H. grypus*. Так, у новорожденных щенков *H. grypus* наблюдается высокая концентрация железа в плазме крови и относительно низкое (по сравнению с взрослеющими животными) содержание гемоглобина. При этом отметим, что у представителей наземных млекопитающих того же возраста уровень гемоглобина в полтора раза ниже (Ермолина, Созинов, 2005).

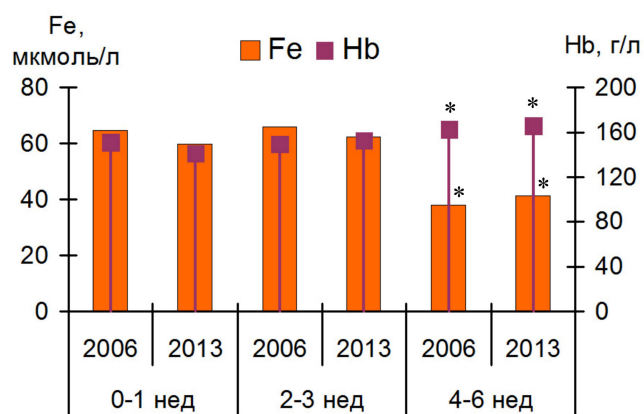


Рис. 7. Содержание железа в плазме крови и гемоглобина в крови *Halichoerus grypus*. Обозначения: * – статистически значимые ($p < 0.05$) различия по сравнению с показателями животных более ранних возрастных групп.

Fig. 7. The content of iron in the blood plasma and the hemoglobin level in the blood of *Halichoerus grypus*. Designations: * – statistically significant ($p < 0.05$) differences compared with the indicators of animals of earlier age groups.

Таким образом, *Halichoerus grypus* уже при рождении характеризуются высокой кислородной емкостью крови. В период активного молочного питания статистически значимых изменений концентрации гемоглобина не отмечается. А к концу периода молочного вскармливания в плазме крови *H. grypus* уровень железа снижается, тогда как концентрация гемоглобина в крови увеличивается ($p < 0.01$) сопоставимо с уровнем взрослых животных. Вероятно, что дальнейшее повышение уровня гемоглобина в старшем возрасте лимитировано запасами железа в плазме крови.

При сходстве динамики биохимического состава крови в первые полтора месяца жизни отмечен ряд различий в уровнях отдельных показателей у животных 2006 и 2013 гг. рождения. Так, из 26 изученных показателей плазмы крови у новорожденных *Halichoerus grypus* различия по пяти позициям, у питающихся молоком – по трем, у завершивших молочное вскармливание – по шести. Эти различия, главным образом, относятся к параметрам белкового обмена. Так, у завершивших молочное вскармливание щенков *H. grypus* 2013 г. рождения уровень общего белка и альбумина в плазме крови выше ($p < 0.001$), чем у животных 2006 г. рождения. При этом активность аспартатаминотрансферазы (маркера катаболических состояний) ниже ($p < 0.001$), а коэффициент де Ритиса (АсАТ/АлАТ) составляет 1.28 против 1.89 у животных в 2006 г. Приведенные факты свидетельствуют о том, что интенсивность процессов трансаминирования для обеспечения глюконеогенеза у

животных, обследованных в 2013 г., была ниже по сравнению с данными 2006 г. Видимо, более высокий уровень энергетических субстратов в виде общих липидов (10.35 ± 0.48 г/л против 8.33 ± 0.42 г/л в 2006 г.) и триглицеридов (2.92 ± 0.36 ммоль/л против 1.31 ± 0.11 ммоль/л в 2006 г.) позволяет снизить интенсивность процессов получения углеводного энергетического субстрата – глюкозы.

Заключение

Результаты исследований гематологических и биохимических параметров крови *Halichoerus grypus* в 2006 и 2013 гг. свидетельствуют о том, что в раннем периоде постнатального развития *H. grypus* происходят метаболические перестройки, присущие млекопитающим в целом, однако степень выраженности отдельных реакций может рассматриваться как особенность ластоногих. К таким особенностям относятся следующие: 1) активность гамма-глутамилтрансферазы, являющейся маркером пассивного переноса иммуноглобулинов у новорожденных млекопитающих, почти в 10 раз ниже, чем у наземных животных; 2) активность щелочной фосфатазы, используемой в качестве показателя упитанности животных и для дифференциации катаболических и анаболических состояний, у изученных щенков *H. grypus* превышает таковую у одновозрастных наземных млекопитающих; 3) особи *H. grypus* уже при рождении обладают высокой кислородной емкостью крови. Наиболее значительные изменения в метаболизме *H. grypus* происходят в период окончания молочного вскармливания.

Особь *Halichoerus grypus*, обследованные в 2006 и 2013 гг., характеризуются сходством гематологических и биохимических параметров крови. Не отмечено существенных изменений в уровне неспецифической резистентности и метаболическом статусе животных к 2013 г., спустя семь лет после первого обследования.

Таким образом, результаты многолетних исследований *Halichoerus grypus* Кандалакшского заповедника показывают: 1) исследование крови в комплексе биологических работ можно рассматривать как один из доступных и эффективных методов прижизненной оценки состояния животных в условиях естественной среды обитания; 2) физиологическое состояние щенков в колонии *H. grypus* на о. Большой Айнов стабильное нормальное; 3) полученные физиолого-биохимические параметры могут быть

приняты в качестве референтных и в дальнейшем использоваться в системе оценки состояния животных и уровня нагрузки на них различных природных и антропогенных факторов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность администрации Кандалакшского государственного природного заповедника за предоставленные возможности проведения полевых работ. Работа выполнена при финансовой поддержке МОН РФ в рамках темы госзадания «Экология и физиология морских млекопитающих арктических морей» (№ гос. регистрации АААА-А18-1180306900063-7 (06.03.2018); № в ГЗ 0228-2019-0028) и частично при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 05-04-48388-а и № 06-04-02106-э_к).

Литература

- Алексеев Н.А. 1998. Гематология детского возраста: Руководство для врачей. СПб: Гиппократ. 544 с.
- Бобова Л.П., Кузнецов С.Л., Сапрыкин В.П. 2003. Гистофизиология крови и органов кроветворения и иммуногенеза. М.: Новая волна. 157 с.
- Бутенко З.А., Глузман Д.Ф., Зак К.П., Филатова Р.С., Шляховенко В.А. 1974. Цитохимия и электронная микроскопия клеток крови и кроветворных органов. Киев: Наукова думка. 248 с.
- Данилова Л.А. (ред.). 2003. Справочник по лабораторным методам исследования. СПб: Питер. 736 с.
- Ермолина С.А., Созинов В.А. 2005. Изменения показателей сывороточного железа и гемоглобина молодняка стандартной норки в возрастной динамике // Физиологические основы повышения продуктивности млекопитающих, введенных в зоокультуру: Материалы международного симпозиума (Петрозаводск, сентябрь 2005 г.). Петрозаводск. С. 64–66.
- Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. 2002. Механизмы развития болезней и синдромов. СПб.: ЭЛБИ-СПб. 507 с.
- Зак К.П., Бутенко А.К. 1985. «Большие гранулосодержащие лимфоциты» – новое понятие в гематологии и иммунологии // Гематология и трансфузиология. №9. С. 45–53.
- Кавцевич Н.Н. 2003. Особенности клеточного состава крови гренландских тюленей (*Pagophilus groenlandicus*) различного возраста // Зоологический журнал. Т. 82(6). С. 758–761.
- Кавцевич Н.Н., Ерохина И.А. 2014. Серый тюлень атлантический // Красная книга Мурманской области. Кемерово: Азия-принт. С. 566–567.
- Кавцевич Н.Н., Минзюк Т.В. 2011. Клеточный состав крови серых тюленей (*Halichoerus grypus*) разного возраста // Зоологический журнал. Т. 90(9). С. 1122–1126.
- Кавцевич Н.Н., Минзюк Т.В., Ерохина И.А. 2015. Эколого-физиологические параметры тюленей разного возраста // Вестник Кольского научного центра РАН. №2(21). С. 59–69.
- Камышников В.С. 2000. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Т. 2. Минск: Беларусь. 463 с.
- Кондаков А.А., Кавцевич Н.Н., Олейников Е.П. 2015. Минимальная численность серых тюленей (*Halichoerus grypus* Fabricius, 1791) в размножающихся колониях Айновых островов // Арктическое морское природопользование в XXI веке – современный баланс традиций и инноваций (Мурманск, 1–3 апреля 2015 г.). Апатиты: Изд-во КНЦ РАН. С. 109–110.
- Кочерга М.Н. 2012. Актуальность определения физиологических параметров редких видов птиц на примере дальневосточного аиста (*Ciconia boyciana* Swinhoe 1873) // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. №2(14). С. 3–10.
- Лецкий В.Б. 1973. Цитохимические исследования лейкоцитов (методические рекомендации). Л.: Медицина. 33 с.
- Любин Н.А., Конова Л.Б. 2005. Методические рекомендации к определению и выведению гемограммы у сельскохозяйственных и лабораторных животных при патологиях. Ульяновск: ГСХА. 113 с.
- Морские млекопитающие Российской Арктики и Дальнего Востока: атлас. Москва: ООО «Арктический Научный Центр», 2017. 311 с.
- Пигаревский В.Е. 1978. Зернистые лейкоциты и их свойства. М.: Медицина. 128 с.
- Риган В.Д., Сандерс Т.Г., Деникола Д.Б. 2000. Атлас ветеринарной гематологии. М.: «Аквариум ЛТД». 135 с.
- Роговин В.В., Муравьев Р.А., Пирузян Л.А. 1983. Пероксидазосомы – 83 // Известия РАН. Серия биологическая. Вып. 5. С. 645–666.
- Рожнов В.В. 2015. Крупные млекопитающие как видоиндикаторы состояния экосистем в Российской Арктике // Научно-технические проблемы освоения Арктики. М.: Наука. С. 286–297.
- Романова Е.Б., Соломайкин Е.И., Бакиев А.Г., Горелов Р.А. 2018. Лейкоцитарный состав крови *Elaphe dione* (Serpentes: Colubridae) заповедника «Оренбургский» (Россия) // Nature Conservation Research. Заповедная наука. Т. 3(Suppl.1). С. 28–35. DOI: 10.24189/ncr.2018.033
- Рослый И.М., Водолажская М.Г. 2010. Правила чтения биохимического анализа: руководство для врача. М.: Медицинское информационное агентство. 96 с.
- Руднева-Титова И.И. 1997. Формирование антиоксидантной системы в раннем онтогенезе морских животных // Успехи современной биологии. Т. 117(3). С. 390–397.
- Русскова О.В., Соколов А.В., Найденко С.В., Шпак О.В., Глазов Д.М., Мухаметов Л.М., Рожнов В.В. 2010. Гематологические, биохимические и гормональные данные как индикаторы физиологического состояния белух (*Delphinapterus leucas*) летнего амурского скопления в Охотском море // Морские млекопитающие Голарктики: сборник научных трудов по материалам VI международной конференции (Калининград, 11–15 октября 2010 г.). Калининград: Капрос. С. 493–497.
- Смирнова Л.Г., Кост Е.А. (ред.). 1960. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям. М.: Медгиз. 964 с.

- Смяян Ю.П. (ред.). 1987. Справочник специалиста ветеринарной лаборатории. Киев: Урожай. 368 с.
- Тиц Н. (ред.). 1997. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. М.: Лабинформ. 960 с.
- Узенбаева Л.Б., Ильина Т.Н., Коросов С.А., Унжаков А.Р., Данилов П.И., Белкин В.В., Якимова А.Е., Илюха В.А. 2010. Оценка физиологического статуса млекопитающих как составляющая экологического мониторинга на европейском севере России // Вестник охотоведения. Т. 7(2). С. 354–357.
- Урбах В.Ю. 1963. Математическая статистика для биологов и медиков. М.: Изд-во АН СССР. 323 с.
- Barnett J.E.F., Turner L., Booth P.A., Hunt A.E. 2007. Haematological and biochemical values for grey seal pups (*Halichoerus grypus*) during early rehabilitation // *Veterinary Record*. Vol. 161(13). P. 447–451. DOI: 10.1136/vr.161.13.447
- Boily F., Beaudoin S., Measures L.N. 2006. Hematology and serum chemistry of harp (*Phoca groenlandica*) and hooded seals (*Cystophora cristata*) during the breeding season, in the Gulf of St. Lawrence, Canada // *Journal of Wildlife Diseases*. Vol. 42(1). P. 115–132. DOI: 10.7589/0090-3558-42.1.115
- Bossart G.D., Reidarson T.H., Dierauf L.A., Duffeld D.A. 2001. Clinical pathology // *CRC Handbook of marine mammal medicine*. 2nd ed. / L.A. Dierauf, F.V.D. Gulland (Eds.). Boca Raton: CRC Press. P. 383–486.
- Boyd J.W. 1984. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals // *Veterinary Clinical Pathology*. Vol. 13(2). P. 7–14. DOI: 10.1111/j.1939-165x.1984.tb00833.x
- Dover S.D., McBain D.V.M., Little K. 1993. Serum alkaline phosphatase as an indicator of nutritional status in cetaceans // *Proceedings of the International Association of Aquatic Animal Medicine*. Vol. 24. P. 44.
- Engelhardt F.R. 1979. Haematology and plasma chemistry of captive pinnipeds and cetaceans // *Aquatic Mammals*. Vol. 7(1). P. 11–20.
- Erokhina I.A. 2009. Metabolic characteristics of the gray seal (*Halichoerus grypus* Fabricius, 1791) in early postnatal development // *Doklady Biological Sciences*. Vol. 424(1). P. 42–44. DOI: 10.1134/S001249660901013X
- Fair P.A., Becker P.R. 2000. Review of stress in marine mammals // *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*. Vol. 7(4). P. 335–354. DOI: 10.1023/A:1009968113079
- Geraci J.R., Smith T.G. 1975. Functional hematology of ringed seals (*Phoca hispida*) in the Canadian arctic // *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. Vol. 32(12). P. 2559–2564. DOI: 10.1139/f75-302
- Goertz C.E.C., Reichmuth C., Thometz N.M., Ziel H., Boveng P. 2019. Comparative health assessments of Alaskan ice seals // *Frontiers in Veterinary Science*. Vol. 6. Article 4. DOI: 10.3389/fvets.2019.00004
- James S.P. 1988. Large granular lymphocytes in the liver // *Hepatology*. Vol. 8(2). P. 420–421. DOI: 10.1002/hep.1840080239
- Johannessen O.M., Miles M.W. 2011. Critical vulnerabilities of marine and sea ice-based ecosystems in the high Arctic // *Regional Environmental Change*. Vol. 11(Suppl.1). P. S239–S248. DOI: 10.1007/s10113-010-0186-5
- Kovyrshina T.B., Rudneva I.I. 2018. The Response of Blood Biomarkers of the Round Goby *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) (Perciformes: Gobiidae) to Chronic Coastal Pollution in the Sea of Azov // *Russian Journal of Marine Biology*. Vol. 44(4). P. 328–333. DOI: 10.1134/S1063074018040065
- Martinez-Porchas M., Hernandez-Rodriguez M., Herzka A.Z., Gutierrez-Millan L.E. 2011. Evaluation of the physiological status of the pacific sardine, *Sardinops sagax caeruleus*, acclimated to different thermal regimes based on selected blood parameters // *Environmental Biology of Fishes*. Vol. 91. P. 39–49. DOI: 10.1007/S10641-010-9757-Z
- Minzyuk T.V., Kavtsevich N.N., Svetochev V.N. 2015. New data on the blood cell composition of bearded seal // *Doklady Biological Sciences*. Vol. 462(1). P. 152–154. DOI: 10.1134/S0012496615030138

References

- Alekseev O.N. (Ed.). 1998. *Hematology of childhood: A Guide for Physicians*. St. Petersburg: Gippokrat. 544 p. [In Russian]
- Barnett J.E.F., Turner L., Booth P.A., Hunt A.E. 2007. Haematological and biochemical values for grey seal pups (*Halichoerus grypus*) during early rehabilitation. *Veterinary Record* 161(13): 447–451. DOI: 10.1136/vr.161.13.447
- Bobova L.P., Kuznetsov S.L., Saprykin V.P. 2003. *Histophysiology of the blood and blood-forming organs and immunogenesis*. Moscow: Novaya volna. 157 p. [In Russian]
- Boily F., Beaudoin S., Measures L.N. 2006. Hematology and serum chemistry of harp (*Phoca groenlandica*) and hooded seals (*Cystophora cristata*) during the breeding season, in the Gulf of St. Lawrence, Canada. *Journal of Wildlife Diseases* 42(1): 115–132. DOI: 10.7589/0090-3558-42.1.115
- Bossart G.D., Reidarson T.H., Dierauf L.A., Duffeld D.A. 2001. Clinical pathology. In: L.A. Dierauf, F.V.D. Gulland (Eds.): *CRC Handbook of marine mammal medicine*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. P. 383–486.
- Boyd J.W. 1984. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals. *Veterinary Clinical Pathology* 13(2): 7–14. DOI: 10.1111/j.1939-165x.1984.tb00833.x
- Butenko Z.A., Gluzman D.F., Zak K.P., Filatova R.S., Shlyakhovenko V.A. 1974. *Cytochemistry and electron microscopy of blood cells and blood-forming organs*. Kiev: Naukova Dumka. 248 p. [In Russian]
- Danilova L.A. (Ed.). 2003. *Handbook of laboratory research methods*. St. Petersburg: Piter. 736 p. [In Russian]
- Dover S.D., McBain D.V.M., Little K. 1993. Serum alkaline phosphatase as an indicator of nutritional status in cetaceans. *Proceedings of the International Association of Aquatic Animal Medicine* 24: 44.
- Engelhardt F.R. 1979. Haematology and plasma chemistry of captive pinnipeds and cetaceans. *Aquatic Mammals* 7(1): 11–20.

- Ermolina S.A., Sozinov V.A. 2005. Changes in serum iron and hemoglobin of young standard mink in the age dynamics. In: *Physiological basis for increasing the productivity of mammals introduced into zooculture: Materials of the international symposium (Petrozavodsk, September 2005)*. Petrozavodsk. P. 64–66. [In Russian]
- Erokhina I.A. 2009. Metabolic characteristics of the gray seal (*Halichoerus grypus* Fabricius, 1791) in early postnatal development. *Doklady Biological Sciences* 424(1): 42–44. DOI: 10.1134/S001249660901013X
- Fair P.A., Becker P.R. 2000. Review of stress in marine mammals. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 7(4): 335–354. DOI: 10.1023/A:1009968113079
- Geraci J.R., Smith T.G. 1975. Functional hematology of ringed seals (*Phoca hispida*) in the Canadian arctic. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 32(12): 2559–2564. DOI: 10.1139/f75-302
- Goertz C.E.C., Reichmuth C., Thometz N.M., Ziel H., Boveng P. 2019. Comparative health assessments of Alaskan ice seals. *Frontiers in Veterinary Science* 6: 4. DOI: 10.3389/fvets.2019.00004
- James S.P. 1988. Large granular lymphocytes in the liver. *Hepatology* 8(2): 420–421. DOI: 10.1002/hep.1840080239
- Johannessen O.M., Miles M.W. 2011. Critical vulnerabilities of marine and sea ice-based ecosystems in the high Arctic. *Regional Environmental Change* 11(Suppl.1): S239–S248. DOI: 10.1007/s10113-010-0186-5
- Kamyshnikov V.S. 2000. *Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics*. Vol. 2. Minsk: Belarus. 463 p. [In Russian]
- Kavtsevich N.N. 2003. Features of the cellular composition of the blood of harp seals (*Pagophilus groenlandicus*) of different ages. *Zoologicheskii Zhurnal* 82(6): 758–761. [In Russian]
- Kavtsevich N.N., Minzyuk T.V. 2011. Cellular composition of the blood of gray seals (*Halichoerus grypus*) of different ages. *Zoologicheskii Zhurnal* 90(9): 1122–1126. [In Russian]
- Kavtsevich N.N., Erokhina I.A. 2014. Atlantic gray seal. In: N.A. Konstantinova, A.S. Koryakin, O.A. Makarova, V.V. Bianki (Eds.): *Red Data Book of the Murmansk region*. 2nd ed. Kemerovo: Asia-print. P. 566–567. [In Russian]
- Kavtsevich N.N., Minzyuk T.V., Erokhina I.A. 2015. Ecological and physiological parameters of seals of different ages. *Herald of the Kola Scientific Center of RAS* 2(21): 59–69. [In Russian]
- Kocherga M.N. 2012. Urgency of definition of physiological parameters of rare species of birds: the case of oriental white stork (*Ciconia boyciana* Swinhoe, 1873). *Actual Questions of Veterinary Biology* 2(14): 3–10. [In Russian]
- Kondakov A.A., Kavtsevich N.N., Oleynikov E.P. 2015. The minimum number of gray seals (*Halichoerus grypus* Fabricius, 1791) in the breeding colonies of the Aynov Islands. In: *Arctic marine environmental management in the XXI century – modern balance of traditions and innovations (for the 80th anniversary of MMBI KSC RAS): Abstracts of international conference (Murmansk, 1–3 April 2015)*. Apatity: KRC RAS. P. 109–110. [In Russian]
- Kovyrshina T.B., Rudneva I.I. 2018. The Response of Blood Biomarkers of the Round Goby *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) (Perciformes: Gobiidae) to Chronic Coastal Pollution in the Sea of Azov. *Russian Journal of Marine Biology* 44(4): 328–333. DOI: 10.1134/S1063074018040065
- Letsky V.B. 1973. *Cytochemical studies of leukocytes (guidelines)*. Leningrad: Meditsina. 33 p. [In Russian]
- Lyubin N.A., Konova L.B. 2005. *Guidelines for the determination and removal of hemograms in agricultural and laboratory animals with pathologies*. Ulyanovsk: State Agricultural Academy. 113 p. [In Russian]
- Marine mammals of the Russian Arctic and the Far East: atlas. Moscow: Arctic Scientific Centre, 2017. 311 p. [In Russian]
- Martinez-Porchas M., Hernandez-Rodriguez M., Herzka A.Z., Gutierrez-Millan L.E. 2011. Evaluation of the physiological status of the pacific sardine, *Sardinops sagax caerullus*, acclimated to different thermal regimes based on selected blood parameters. *Environmental Biology of Fishes* 91: 39–49. DOI: 10.1007/S10641-010-9757-Z
- Minzyuk T.V., Kavtsevich N.N., Svetochev V.N. 2015. New data on the blood cell composition of bearded seal. *Doklady Biological Sciences* 462(1): 152–154. DOI: 10.1134/S0012496615030138
- Pigarevsky V.E. 1978. *Granular leukocytes and their properties*. Moscow: Meditsina. 128 p. [In Russian]
- Rigan V.D., Sanders T.G., Denikola D.B. 2000. *Atlas of veterinary hematology*. Moscow: «Aquarium LTD». 135 p. [In Russian]
- Rogovin V.V., Muravyov R.A., Piruzyan L.A. 1983. Peroxidazosomes – 83. *Izvestiya Rossiiskoi Akademii Nauk. Seriya Biologicheskaya* 5: 645–666. [In Russian]
- Romanova E.B., Solomaykin E.I., Bakiev A.G., Gorelov R.A. 2018. The leukocyte blood composition of *Elaphe dione* (Serpentes: Colubridae) in Orenburg State Nature Reserve (Russia). *Nature Conservation Research* 3(Suppl.1): 28–35. DOI: 10.24189/ncr.2018.033 [In Russian]
- Rosly I.M., Vodolazhskaya M.G. 2010. *Rules for reading biochemical analysis: a guide for the doctor*. Moscow: Medical Information Agency. 96 p. [In Russian]
- Rozhnov V.V. 2015. Large mammals as indicator species of the state of ecosystems in the Russian Arctic. In: *Scientific and technical problems of the development of the Arctic*. Moscow: Nauka. P. 286–297. [In Russian]
- Rudneva-Titova I.I. 1997. Formation of the antioxidant system in the early ontogenesis of marine animals. *Advances in Modern Biology* 117(3): 390–397. [In Russian]
- Russkova O.V., Sokolov A.V., Naidenko S.V., Shpak O.V., Glazov D.M., Mukhametov L.M., Rozhnov V.V. 2010. Hematological, biochemical and hormonal data as indicators of the physiological state of belugas (*Delphinapterus leucas*) of the Amur summer cluster in the Okhotsk Sea. In: *Marine mammals of Holarctic: Proceedings of the VI International conference (Kaliningrad, 11–15 October 2010)*. Kaliningrad: Kapros. P. 493–497. [In Russian]
- Smirnova L.G., Kost E.A. (Eds.). 1960. *Guide to Clinical Laboratory Research*. Moscow: Medgiz. 964 p. [In Russian]

- Smiyan Yu.P. (Eds.). 1987. *Handbook of the specialist of the veterinary laboratory*. Kiev: Urozhay. 368 p. [In Russian]
- Tits N. (Ed.). 1997. *Encyclopedia of clinical laboratory tests*. Moscow: Labinform. 960 p. [In Russian]
- Urbakh V.Yu. 1963. *Mathematical statistics for biologists and physicians*. Moscow: Publishing House of AS USSR. 323 p. [In Russian]
- Uzenbaeva L.B., Ilyina T.N., Korosov S.A., Unzhakov A.R., Danilov P.I., Belkin V.V., Yakimova A.E., Ilyukha V.A. 2010. Evaluation of mammals physiological status as constituent part of the ecological monitoring in European North of Russia. *Bulletin of Game Management* 7(2): 354–357. [In Russian]
- Zak K.P., Butenko A.K. 1985. «Large granular lymphocytes» – a new concept in hematology and immunology. *Hematology and Transfusiology* 9: 45–53. [In Russian]
- Zaychik A.Sh., Churilov L.P. 2002. *Mechanisms of development of diseases and syndromes*. St. Petersburg: ELBI-SPb. 507 p. [In Russian]

HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE GRAY SEAL *HALICHOERUS GRYPUS* (PHOCIDAE) IN THE KANDALAKSHA STATE NATURE RESERVE (RUSSIA)

Irina A. Erokhina*, Nikolay N. Kavtsevich, Tatyana V. Minzyuk

Murmansk Marine Biological Institute, Kola Scientific Centre of RAS, Russia

*e-mail: irina.erohina58@mail.ru

The paper presents results of the study of cellular composition and biochemical parameters of blood in gray seal (*Halichoerus grypus grypus*) in the Kandalaksha State Nature Reserve (Bolshoy Ainov Island, Barents Sea). Animals have been studied in an early postnatal period of development, i.e. from birth to weaning. We have determined the following blood parameters: leukocyte blood differential count and indicators of the functional activity of the cells, describing a level of nonspecific bactericidal activity, i.e. content of myeloperoxidase and cationic protein in granulocytes. The set of biochemical parameters includes the basic indicators of metabolism: total protein and its fractions, urea, creatinine, uric acid, glucose, lactic acid, total lipids, triglycerides, cholesterol, calcium, phosphorus, sodium, potassium, magnesium, iron, enzymes (aminotransferases, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, α -amylase, γ -glutamyltransferase, creatine kinase). The values of hematological and biochemical parameters are within the limits of a norm described for *H. grypus* of the same ages. This allows us to characterise a status of pups born in 2006 and 2013 as a normal one. We have determined that in the first month of *H. grypus*' life the bactericidal function of leucocytes is carried out, mainly, by myeloperoxidase. Cationic protein serves only as an addition in the bactericidal system. Changes of metabolic characteristics in *H. grypus* during an early postnatal period are similar to those in terrestrial mammals. At the same time, the level of some indicators should be served as a feature of pinniped metabolism. So, gamma-glutamyltransferase activity, being a marker of passive immunoglobulins transfer in newborns, is almost 10 times lower than in terrestrial animals. The activity of alkaline phosphatase acted as an animal fatness index and to differentiate the catabolic and anabolic statuses, is higher in young *H. grypus* than in terrestrial mammals of the same age. Newborn *H. grypus* individuals also have a high blood oxygenous capacity, which is comparable with the indices of adults. *Halichoerus grypus* individuals born in 2006 and 2013 had similar hematological and biochemical blood parameters. The obtained values of blood parameters could be accepted as reference indices. They could be used to evaluate animal status and influence of various natural and anthropogenic factors on *H. grypus*.

Key words: biochemistry, hematology, peripheral blood, physiological status assessment, rare species, Red Data Book